

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ СВИНЦЮ В
ЕТІОПАТОГЕНЕЗІ РОЗВИТКУ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЇ
НЕДОСТАТНОСТІ**

Білецька Е.М., Онул Н.М.

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
кафедра загальної гігієни, м. Дніпро, Україна*

Вступ. Стан здоров'я людини, її репродуктивний потенціал є одним з основних критеріїв якості навколишнього середовища та якості життя населення. У наш час, у зв'язку з погіршенням екологічної ситуації, економічними негараздами, зниженням якості життя людей відзначаються негативні тенденції показників популяційного здоров'я та розвиток демографічної кризи [1; 5; 8].

Серед найбільш актуальних проблем репродуктивної сфери людини фетоплацентарна недостатність (ФПН) продовжує займати провідні позиції, адже незважаючи на інтенсивне використання найновіших методів діагностики і лікування, недостатність функції плаценти залишається основною причиною високого рівня захворюваності і смертності дітей не тільки в перинатальному періоді, але і на етапах її подальшого розвитку [3].

Як відомо, ФПН – це клінічний синдром, обумовлений морфофункціональними змінами в плаценті і проявляється порушеннями транспортної, трофічної, ендокринної і метаболічної її функцій, які лежать в основі патології плоду і новонародженого [7].

В етіології ФПН неможливо виділити провідний або єдиний компонент, частіше спостерігається поєднання декількох чинників, тобто даний патологічний стан має мультифакторну природу. Однією з причин розвитку ФНП є негативний вплив на організм вагітної денатурованого довкілля [3; 8], зокрема свинцю та його похідних, який відноситься до найбільш небезпечних техногенних забруднювачів довкілля [1; 5].

Підтвердженням останнього твердження є результати наших багаторічних епідеміологічних, експериментальних та натурних клінічних досліджень, які свідчать [1; 2; 4], що в умовах техногенних біогеохімічних провінцій біосубстрати системи «мати-плацента-плід» містять ксенобіотики, зокрема свинець у підвищених концентраціях, який детермінує розвиток ускладнень вагітності, пологів та післяпологового періоду, погіршення показників фізичного та інтелектуального розвитку дитини.

У той же час експериментальних робіт, присвячених вивченню впливу низьких концентрацій свинцю на ембріональний розвиток, вкрай мало [2; 6; 8], питання морфології та патогенезу такого впливу на плаценту і плід, розвиток фетоплацентарної недостатності залишаються практично не вивченими. Між тим, ці знання можуть слугувати теоретичним підґрунтям для розробки практичних заходів щодо захисту внутрішньоутробного розвитку плоду, що і обумовило мету даного дослідження.

Мета дослідження - вивчення змін морфофункціонального стану фетоплацентарного комплексу внаслідок впливу низьких доз свинцю в експериментальних умовах.

Методи та методики дослідження. Для проведення експериментальних досліджень було обрано самиць щурів лінії Wistar віком 3-3,5 міс. з масою тіла 170-200 г. Дослідження на тваринах проводили відповідно до вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2001), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2009), які узгоджуються з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1985). Тварин утримували в оптимальних умовах віварію на стандартному раціоні із вільним доступом до води та їжі. Адаптаційний період складав 12 днів, після чого самиць зі стійким ритмом естрального циклу в стадії проеструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках.

Експериментальним тваринам з 1 по 19 день вагітності вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг внутрішньошлунково через зонд однократно, в один і той же час. Щури контрольної групи отримували дистильовану воду.

На кінцевому етапі дослідження тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом і відбирали матеріали для подальших досліджень.

Для проведення морфологічних досліджень фетоплацентарного комплексу здійснена органометрія послідів самок щурів з вимірюванням масометричних параметрів плацент, плодів. Для вивчення послідів вагітних щурів на тканинному рівні відібраний матеріал був зафіксований в 10% нейтральному формаліні з наступним приготуванням серійних парафінових гістологічних зрізів, які після депарафінації були пофарбовані гематоксиліном і еозином. Світлова мікроскопія проводилась з використанням мікроскопу «Leika CM-E» (USA), об'єктивами $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$. Кількісне дослідження різних зон плаценти виконували за допомогою програмного пакету ImageJ 1,47v використовуючи загальні принципи стереометричного аналізу.

Для визначення абсолютного вмісту свинцю у біосубстратах системи «мати-плацента-плід» та наступного розрахунку індексів їх міграції в організмі другу половину вилученого біоматеріалу заморожували при $t = -20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Зразки крові, плаценти, плодів готували шляхом озоління. Вміст свинцю визначали методом інверсійної вольтамперометрії на приладі АВА-2.

Отримані результати опрацьовували за допомогою традиційних методів варіаційної статистики. Достовірність відмінностей визначали за t-критерієм Стьюдента.

Результати. Оскільки одним з провідних ознак плацентарної недостатності є рівень внутрішньоутробної смертності плодів та параметри їх фізичного розвитку [7; 8], перший блок досліджень стосувався саме цих показників. Встановлено підвищенням рівня загальної ембріональної смертності у 2,2 рази ($p < 0,01$) порівняно з групою контролю, що призвело до зменшення кількості живих плодів у посліді на 17% ($7,5 \pm 0,53$ проти $9,0 \pm 0,4$ у групі контролю ($p < 0,05$)). При цьому зменшується не лише загальна кількість

плодів, але і рівень їх фізичного розвитку – на 11,9% при збереженні пропорційності будови. При цьому плоди чоловічої статі за морфометричними показниками розвитку виявились більш чутливими до внутрішньоутробного впливу свинцю порівняно із самками.

Як відомо, фетоплацентарна недостатність виникає при порушенні функції плаценти, які проявляються у вигляді її структурних змін [8]. Тому другий блок досліджень стосувався вивчення морфологічних змін у плаценті на макро- та мікроскопічному рівнях.

Результати макроскопічних та масометричних досліджень не виявили достовірних змін плацент тварин експериментальної групи порівняно з контролем. У той же час дані гістологічних та гістоморфометричних досліджень свідчать про розвиток патологічних змін усіх зон плаценти при збереженні загального плану будови органу. Загальна товщина плаценти достовірно не відрізнялась від значень контрольної групи та складала $2867,5 \pm 185,4$ мкм проти $2537,7 \pm 167,1$ мкм у контролі при збільшенні на 28,3% ($p < 0,05$) товщини лабіринтної зони і зменшенні на 50,9% ($p < 0,01$) товщини спонгіотрофобласту.

У лабіринтній зоні плаценти мали місце ознаки деструктивно-дегенеративних процесів та набряку, що визначало стан гемомікроциркуляторного русла плода та розвитку трофобласту. Кількість плодових капілярів та ступінь їх розвитку знижувалися порівняно з контролем. Судини містили малу кількість формених елементів крові й місцями були порожніми, спустошеними. У трофобласті лабіринтної зони, через який безпосередньо відбувається транспорт речовин від матері до плоду і назад, та який становить основу гематоплацентарного бар'єру у щурів [10], виявлялося значне накопичення депозитів фібрину навколо ворсин у порівнянні з контролем. Відзначалося порушення будови цито- та синцитіотрофобластних балок лабіринту. Товщина їх значно варіювала і була найменшою поблизу судин плода. В деяких ділянках цитотрофобласта поряд із дистрофічними виявлялися

також некротичні зміни. У синцитії на місці накопичення гранул глікогену утворювались вакуолеподібні порожнини з просвітленням його цитоплазми.

У спонгіозній зоні спостерігалися гідропічна дистрофія спонгіотрофобластів, гіперхроматоз та руйнування їх ядер, дегенеративні зміни неглікогенних клітин, вогнища некрозу, крововиливів та місцями набряк строми. Також відзначалося посилення руйнування в острівках глікогенних клітин, на місцях яких утворювались порожнини. Кількість гранул глікогену в них була нижчою за контроль. Шар гігантських клітин трофобласту був значно звужений та складався переважно з одного ряду дрібних клітин, у цитоплазмі яких були наявні чисельні включення, що свідчило про збільшення фагоцитарної активності клітин. Площа крайових материнських синусоїдів та периферійних материнських лакун зменшувалась, в їх просвіті спостерігались явища тромбозу та агрегації еритроцитів. Окрім формених елементів крові в них місцями зустрічались також глікогенні клітини, в той час як в нормі у лакунах вони виявляються в одиничних випадках.

У децидуальній зоні, товщина якої у тварин експериментальної групи достовірно не відрізнялась від контрольних значень, спостерігалось збільшення вогнищ некрозу та відкладання депозитів фібрину. Питома кількість гранул ліпідів та питомий об'єм глікогену у децидуальних клітинах був різко знижений.

Вищеописані зміни структурної організації плаценти свідчать про дисциркуляторні порушення в ній, які, у поєднанні з альтерацією трофобластичних клітин, складають, на нашу думку, патоморфологічний субстрат розвитку плацентарної недостатності при дії сполук свинцю, що, в свою чергу, призводить до зміни умов внутрішньоутробного розвитку плоду.

В основі патогенезу цього процесу, ймовірно, лежить незавершеність гестаційної перебудови материнських та фетальних капілярів, яка супроводжується зменшенням васкуляризації та розвитком дисциркуляторних розладів у плаценті. Суттєве зменшення питомого обсягу глікогенних клітин є додатковою ознакою структурної незрілості плацент. Крім того, зниження

кількості глікогену в усіх зонах вказує на дефіцит енергетичного субстрату для забезпечення активного транс- і параплацентарного транспорту [2; 10], зниження питомої обсягу тришарового трофобласту лабіринту - на порушення гематоплацентарний бар'єру, зменшення кількості гігантських клітин трофобласта проміжної зони - на зниження ендокринної функції плаценти [9].

Біохімічні дослідження плаценти щурів на 20-у добу вагітності повністю підтвердили висновки морфологічних досліджень. Так, в плаценті тварин експериментальної групи в 3,2 рази ($p < 0,001$) збільшився вміст свинцю – з $0,096 \pm 0,015$ у групі контролю до $0,304 \pm 0,055$ мг/кг. Так само, як і підвищенням накопичення металу в організмі плоду порівняно з контрольною групою у 1,4 рази ($p < 0,001$). Аналіз розрахованих нами індексів свідчить, що за фізіологічного перебігу вагітності свинець інтенсивно накопичується як у плаценті, так і в організмі плоду внаслідок неспроможності фетоплацентарного бар'єру повністю затримувати даний токсикант під час вагітності. При інтенсивному надходженні свинцю до організму вагітної активізуються адаптаційно-приспосувальні механізми в системі «мати-плацента-плід», які проявляються збільшенням внутрішньоплацентарної кумуляції металу на 34,4-91,1 % за одночасного гальмування процесів його трансплацентарної міграції в 1,4 рази, що в свою чергу призводить до зниження інтенсивності накопичення свинцю плодом на 10,3-26,2 % порівняно з фізіологічним рівнем, що, однак, не забезпечує повноцінний захист плоду від надмірного внутрішньоутробного впливу ксенобіотика.

Висновки.

1. Введення ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг протягом усього періоду вагітності обумовлює розвиток патоморфологічних змін у плаценті, що складає патоморфологічний субстрат розвитку плацентарної недостатності та є причиною порушення трофічної, транспортної, метаболічної та інших функцій плаценти.

2. Розвиток плацентарної недостатності на фоні інтоксикації організму низькими дозами свинцю призводить до затримки внутрішньоутробного

розвитку плодів зі зменшенням параметрів їх фізичного розвитку на 11,9%, зниженням кількості живих плодів у посліді – у 1,2 рази та підвищенням ембріолетальності у 2,2 рази.

3. Постійність експозиції свинцем під час усієї вагітності зумовлює розвиток внутрішньоутробних дизадаптивних процесів, що проявляється підвищенням вмісту ксенобіотика в усіх біосубстратах у 1,3-3,2 рази порівняно з фізіологічним рівнем та віддзеркалює нездатність плаценти в повному обсязі захищати плід від надмірного внутрішньоутробного впливу ксенобіотика.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белецкая Э.Н. Эколого-гигиеническая оценка антропогенной нагрузки окружающей среды как фактора риска для здоровья населения Приднепровья / Э.Н. Белецкая, Н.М. Онул. – Днепропетровск: Акцент ПП, 2016. – 140 с.

2. Белецкая Э.Н. Плацента как индикатор техногенного загрязнения окружающей среды / Э.Н.Белецкая, Н.М.Онул // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2015. – №3-1 (41-1). – С. 15-20.

3. Морфофункциональные изменения фетоплацентарного комплекса на фоне табачной интоксикации / Г.И.Корнеев, Л.В.Лизурчик, О.Ю.Сипайлова [и др.] // Вестник ОГУ. – 2014. – №6. – С. 67-70.

4. Онул Н.М. Гігієнічна оцінка регіональних особливостей частоти та структури репродуктивних ускладнень у вагітних Дніпропетровської області / Н.М.Онул // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 3, Том 2 (123). – С. 190-194.

5. Сердюк А.М. Екологія довкілля та безпека життєдіяльності населення у промислових регіонах України / А.М. Сердюк, В.П.Стусь, В.І.Ляшенко // Дніпропетровськ: Пороги, 2011. – 486 с.

6. Скальный А.В. Биоэлементы и показатели эмбриональной смертности лабораторных крыс / А.В. Скальный, С.В. Залавина, С.В. Ефимов // Вестник ОГУ. – 2006. – №2. – С. 78-81.

7. Baschat A.A. Fetal responses to placental insufficiency: an update / A.A. Baschat // BJOG. – 2004. - Vol. 111, Iss. 10. – P. 1031–1041.

8. Environmental exposures to lead and cadmium measured in human placenta / M.Falcon, P.Vinas, E.Osuna, A. Luna // Arch Environ Health. – 2002. – Vol.57, N6. – P.598-602.

9. Rat placentation: An experimental model for investigating the hemochorial maternal-fetal interface / M.J.Soares, B.M.Chapman, C.A. Rasmussen [et al.] // Placenta. – 2012. – P. 233-243.

10. Toxicological Pathology in the Rat Placenta / S. Furukawa, S.Hayashi, K.Usuda [et al.] // J. of Toxicologic Pathology. – 2011. – Vol. 24. – P. 95–111.

Резюме.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ СВИНЦЮ В ЕТІОПАТОГЕНЕЗІ РОЗВИТКУ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Однією з причин розвитку фетоплацентарної недостатності є негативний вплив на організм вагітної ксенобіотиків довкілля, зокрема свинцю. Тому метою дослідження є вивчення змін морфофункціонального стану фетоплацентарного комплексу внаслідок впливу низьких доз свинцю в експериментальних умовах. В результаті проведених досліджень встановлено, що введення ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг протягом усього періоду вагітності обумовлює розвиток патоморфологічних змін у плаценті щурів, що супроводжується дизадаптивними процесами та плацентарною недостатністю і призводить до зниження кількості живих плодів у посліді у 1,2 рази та затримки їх розвитку на 11,9%, підвищення ембріолетальності у 2,2 рази.

Ключові слова: фетоплацентарна недостатність, плодово-плацентарний комплекс, вплив, свинець, експеримент.

Резюме.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РОЛИ СВИНЦА В ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОГЧНОСТИ

Одной из причин развития фетоплацентарной недостаточности является негативное влияние на организм беременной ксенобиотиков, в частности свинца. Поэтому цель настоящего исследования - изучение изменений морфофункционального состояния фетоплацентарного комплекса вследствие воздействия низких доз свинца в экспериментальных условиях. В результате проведенных исследований установлено, что введение ацетата свинца в дозе 0,05 мг/кг в течение всего периода беременности обуславливает развитие патоморфологических изменений в плаценте крыс, что сопровождается дизадаптивными процессами и плацентарной недостаточностью, и, как следствие, приводит к снижению количества живых плодов в помете в 1,2 раза, задержке их развития на 11,9%, повышению эмбриолетальности в 2,2 раза.

Ключевые слова: фетоплацентарная недостаточность, плодово-плацентарный комплекс, влияние, свинец, эксперимент.

Summary.

EXPERIMENTAL RESEARCH ROLE OF LEAD IN PATHOGENESIS OF PLACENTAL INSUFFICIENCY

One of the reasons of placental insufficiency is negative influence of environmental xenobiotics, including lead, on pregnant. The purpose is to study changes in morphological and functional state of the placenta due to the impact of lead low doses in experimental conditions. It is revealed, that the introduction of lead acetate at a dose of 0.05 mg/kg during pregnancy causes the development of pathological changes in rats' placenta, accompanied disadaptative processes and placental insufficiency, reduces the number of live fetuses in 1.2 times, delay their development by 11.9%, increasing by 2.2 times embryoletality.

Key words: placental insufficiency, fetus-placental complex, influence, lead, experiment.